

課題番号 2

COVID-19 早期診断と予後予測のための 呼気オミクス装置開発

[1] 組織

代表者：赤池 孝章

(東北大学大学院医学系研究科)

対応者：魏 范研

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

守田 匡伸 (東北大学大学院医学系研究科)

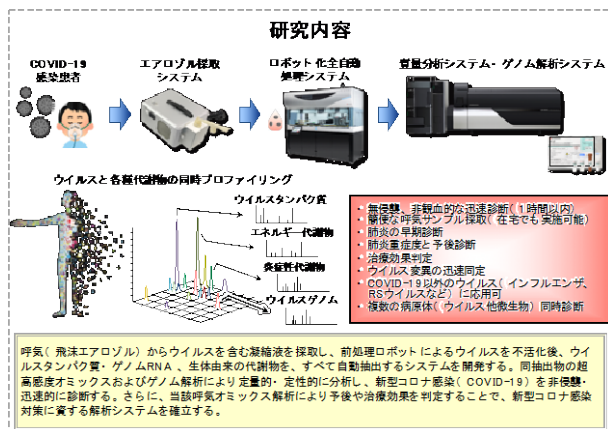
井田 智章 (東北大学大学院医学系研究科)

松永 哲郎 (東北大学大学院医学系研究科)

高田 剛 (東北大学大学院医学系研究科)

研究費：物件費 50 万円

[2] 研究経過



現在世界的に問題になっている新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) では、致命的になりえるという

観点で肺炎は極めて重要な症状である。そのため、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 感染がもたらす病態の理解には、下気道におけるウイルスの増殖や炎症応答を評価することが必要である。しかし、従来診断に用いられてきた生体試料では、下気道の病態を評価することが困難である。呼気は下気道由来の成分を多く含むとされており、COVID-19 の診断には格好の生体試料といえる。また、非侵襲的で患者が自分自身で採取することが可能であるため、検査を行う医療従事者の感染リスクを下げるのが可能になると期待される。そこで、本研究では、呼気を採取してその凝縮液を用いて呼気オミクスシステムを確立することを目的とする。

本研究においては、赤池と魏の間で、研究打ち合わせを頻回に実施し、呼気の採取方法と分析手法についての議論を行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

・呼気凝縮液を用いたウイルスの検出

呼気オミクスの実施に先立ち、SARS-CoV-2 感染者の呼気凝縮液にウイルスあるいはウイルス由来の成分が含まれているか否かについて予備検討を行った。具体的には唾液を用いた PCR 法で新型コロナウイルス陽性と確定した 6 名の感染者から呼気凝縮液を採取し、医療現場で使用されている定量 PCR キットを用いてウイルス RNA の検出を試みた。その結果、6 例すべてにおいてウイルス RNA が検出され、呼吸凝縮液の中にウイルスが含まれていることが示された。

・呼気凝縮液を用いた呼気オミクスの実施

呼気オミクスによるウイルスの増殖や炎症応答の評価法を確立するため、健康人の呼気凝縮液を用いて代謝物の検出方法の確立を試みた。具体的には、健康者から採取される凝縮液を限外濾過ユニットにアプライし、遠心分離装置を用いて凝縮液中のタンパク質と低分子代謝物を分離した。その後、濾過液を真空乾燥機に入れ水成分を除去した。乾燥したサンプルについては純水を少量添加し再融解した後、2μL を質量分析に供した。質量分析装置はトリプル四重極質量分析

装置（島津 LCMS8060）を用いた。その結果、呼気凝縮液から生体に由来する 10 種類以上の成分が高い感度で検出した。

・新型コロナウイルスの呼気ウイルスの検出

COVID-19 患者を対象に呼気凝縮液の新型コロナウイルス PCR 解析を行った。その結果、感染者の通常呼気と比較して、発声検体から高率に、また、時に大量の新型コロナウイルスが検出された。呼気を用いた無侵襲 PCR 検査法が、唾液 PCR 偽陰性患者、および、呼気エアロゾルを介する空気感染経路におけるスーパープレッダーの検出に有用であることが示された。

さらに、健常者および COVID-19 患者から回収した呼気凝縮液を用いて、硫黄代謝物を中心に呼気オミクス解析を行った。その結果、亜硫酸イオン (HSO_3^-) やチオ硫酸イオン (H_2SO_3)、二硫化物イオン (HS_2^-) などの各種硫黄代謝物の生成レベルが SARS-CoV-2 感染およびその後の回復に伴って大きく変動したことから、硫黄代謝物が COVID-19 のバイオマーカーとなりえる可能性が見出された。

以上により、呼気凝縮液を用いたオミクス解析の基本プロトコルを策定することに成功し、当初の目的達成となった。今後は、新型コロナウイルス患者と健常者由来の呼気凝縮液を用いて呼気オミクスを実施し比較検討することで、感染による代謝物のプロファイルと変動パターンを明らかにすることで、COVID-19 の重症度予測に資する技術の完成を目指す。

（3-2）波及効果と発展性など

本研究で確立を目指す呼気オミクス解析システムでは、呼気検体の収集が簡便で、ひとたび解析パイプラインが完成すれば高いスループットを実現できると予想されることから、診断の改善につながることを期待される。また、同一症例から繰り返し検体を収集できることから、ウイルスゲノム RNA の修飾や代謝物、サイトカインなど、オミクスの経時的データを臨床経過と関連付けることが可能である。これらのデータが蓄積してくれば、将来的にはリスク予測・予兆検知が可能になるものと期待される。さらに、本システムは SARS-CoV-2 感染に限らず、様々な感染症や代謝疾患の診断やがんの早期発見など幅広く利用でき、新しい診断技術として大きな可能性を秘めている。

〔4〕 成果資料

呼気凝縮液のオミクス解析はまだシステム開発の途中であるため、2021 年 3 月時点で論文発表は行っ

ていない。一方、本システムの基本概念と仕様については、東北大学からプレスリリースで発表済みであり、新聞等で大きく取り上げられた。

1)東北大学プレスリリース（2020 年 10 月 16 日）
<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2020/10/press20201016-03-breathomics.html>

2)島津製作所プレスリリース（2020 年 10 月 16 日）
<https://www.shimadzu.co.jp/news/press/ve6vgjo5z46prku1.html>

3)日経新聞（2020 年 10 月 16 日）
<https://www.nikkei.com/article/DGXMZO65109180W0A011C2000000/>